Lactobacillus reuteri DSMZ17648 tindalizzato

Nuovo approccio a supporto del trattamento dell'infezione da Helicobacter pylori

Laura Caimi
Variati - laura.caimi@variati.it

Parole chiave *Lactobacillus reuteri* tindalizzato, *Helicobacter pylori*, Co-aggregazione, Disturbi gastrici

Riassunto

La presenza di *Helicobacter pylori* è un problema che affligge circa il 50% della popolazione mondiale. L'infezione si rivela asintomatica nella maggior parte dei casi, ma nel 10-20% degli individui positivi al batterio, talvolta si possono sviluppare disturbi anche gravi quali gastrite, ulcere gastriche o duodenali fino ad evolvere, nei casi più gravi, in tumori dell'apparato gastrointestinale. Ad oggi, rigorosi protocolli terapeutici forniscono l'unica possibilità di eradicazione di questo batterio. La terapia consiste in associazione di antibiotici, di inibitori della pompa protonica spesso insieme a sali di bismuto (triplice e quadruplice terapia). Tali terapie sono spesso associate a importanti effetti collaterali, tra cui il più importante è rappresentato dall'antibiotico-resistenza, fenomeno dovuto anche ad un sempre crescente utilizzo non appropriato di antibiotici.
Inoltre, la popolazione positiva alla presenza di *Helicobacter pylori* ma con effetti clinici lievi, spesso non accetta una terapia antibiotica a causa proprio degli effetti collaterali.
Questo "*gap* terapeutico" ha fatto sì che la ricerca vagliasse possibilità diverse per affrontare questo insidioso ospite.
Il presente articolo illustra gli effetti dell'utilizzo di un ceppo di *Lactobacillus reuteri* (DSMZ17648) tindalizzato quale supporto alle terapie standard di eradicazione dell'*Helicobacter pylori*, attraverso un interessante meccanismo di co-aggregazione specifico tra le superfici batteriche, limitando in modo importante gli effetti collaterali che normalmente si sviluppano con le terapie standard.
In seguito a questa co-aggregazione specifica, il *Lactobacillus reuteri* DSMZ17648 tindalizzato maschera i siti di adesione dell'*Helicobacter pylori*, impedendone l'annidamento nella mucosa gastrica, passaggio necessario allo sviluppo della patogenicità del batterio.
I co-aggregati vengono rimossi dallo stomaco attraverso i normali meccanismi gastrici ed intestinali.

SUMMARY

Non-viable Lactobacillus reuteri DSMZ17648
New approach for supporting the standard Helicobacter pylori eradication treatment.

The Helicobacter pylori infection is one of the main cause of different gastrointestinal diseases, such as gastritis, duodenal and gastric ulcer and, in the most serious cases, MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma and gastric cancer.
Until now, the therapy for the eradication of the H. pylori consists of a combination of antibiotics, proton pump inhibitors together with a bismuth compound (triple and quadruple therapy).
The standard therapy could cause adverse effects, the worst of which is the antibiotic resistance. In order to avoid this side effect, researchers focus on the beneficial effects of probiotics.
It is well known that probiotics could exert a great series of powerful responses that can help to restore physiological conditions. This is true also for the tyndalized bacteria. The Lactobacillus reuteri DSMZ17648 has been selected from among more than 8000 different strains because of the specific capacity to co-aggregate the Helicobacter pylori strain when the pathogen bacterium is present in the coccoid form.
This review focuses on the activity of specific co-aggregation activity between the tyndalized spray-dried Lactobacillus reuteri DSMZ17648 and Helicobacter pylori as new approach for supporting the standard treatment for the H. pylori eradication, helping to lower the antibiotic resistance side effects of the traditional pharmacological treatment.

Introduzione

Helicobacter pylori è un batterio Gram negativo, spiraliforme che può colonizzare la mucosa gastrica. Se

trascurato, questo batterio può provocare disturbi molto severi: gastrite, ulcera peptica e, nei casi più gravi, tumore allo stomaco.
Se per tutto il ventesimo secolo si è ritenuto che l'ulcera fosse provocata prevalentemente dallo stress o, talvolta, dall'assunzione di cibi acidi o molto piccanti, è soltanto all'inizio degli anni Ottanta che prende forma l'ipotesi secondo cui l'origine dell'ulcera sarebbe prevalentemente infettiva. Nel 1982, due medici australiani, Robin Warren e Barry Marshall, isolano per la prima volta un batterio, *Helicobacter pylori*, che sembra essere alla base dello sviluppo dell'ulcera gastrica e duodenale (**1-3**).
Helicobacter pylori è un batterio flagellato, presente nello stomaco nella sua forma mobile, planctonica e, grazie a diverse strategie, è in grado di sopravvivere all'ambiente acido dello stomaco, aderendo allo strato interno della mucosa gastrica e colonizzandolo. Ciò causa una costante produzione di muco che viene riversato nel lume gastrico; la massiccia presenza di muco costituisce l'*habitat* ideale per questo batterio.
La resistenza del batterio al pH dello stomaco è data dalla produzione di un enzima, l'ureasi (enzima della classe delle idrolasi), che scinde l'urea in ammoniaca e biossido di carbonio, composti utili al batterio per tamponare l'acidità dell'ambiente gastrico. Inoltre, l'ammoniaca prodotta dall'azione dell'ureasi sembra essere la causa della lesività diretta sui tessuti gastrici, unitamente alla liberazione di mediatori dell'infiammazione che amplificano, seppur in via indiretta, il danneggiamento.
Si stima che oltre il 50% della popolazione mondiale sia infetta da *H. pylori*. L'infezione è spesso asintomatica, ma nel 10-20% dei casi (**4**) può provocare gastrite e ulcere a livello dello stomaco o del duodeno, il primo tratto dell'intestino: recenti dati indicano che circa il 90% delle ulcere duodenali e l'80% di quelle gastriche siano di origine infettiva (**5,6**).
Il sintomo più comune dell'ulcera gastroduodenale è il bruciore o dolore a livello dell'epigastrio, la parte superiore dell'addome, soprattutto lontano dai pasti e di primo mattino, quando lo stomaco è vuoto.
A lungo termine, l'infezione da *H. pylori* è associata a un aumento di 2-6 volte del rischio di linfoma MALT (tessuto linfoide associato alle mucose) (**7,8**) e soprattutto di carcinoma gastrico, il secondo cancro più comune nel mondo, soprattutto in Paesi come la Cina o la Colombia, dove più di metà della popolazione infantile è infetta da *H. pylori*. Attualmente, l'uomo sembra essere l'unico serbatoio noto di questo batterio e la trasmissione diretta da persona a persona rappresenta la più comune modalità infettiva. Il contagio può avvenire per via oro-orale oppure oro-fecale; in quest'ultimo caso la trasmissione richiede un veicolo intermedio, quale ad esempio l'acqua contaminata. A supporto di questa ipotesi, l'infezione da *H.pylori* è maggiormente presente ove sussistono condizioni di scarsa igiene ambientale.
Ad oggi, l'unica possibilità di eradicazione di questo batterio è rappresentata dalla terapia antibiotica in associazione con inibitori della pompa protonica utili a ridurre l'acidità gastrica e a favorire, di conseguenza, l'azione degli antibiotici (poco efficaci in soluzioni eccessivamente acide).
Non di rado, la triplice terapia standard è però associata a severi effetti collaterali, tra cui il più importante è rappresentato dall'antibiotico-resistenza (Maastricht V/Florence Consensus Report (**9**). Inoltre persone positive all'*Helicobacter* ma che ancora non presentano effetti clinici rilevanti si trovano ad affrontare un "*gap* terapeutico" che rende ancora più complicata la cura (**10**).
Questi aspetti della terapia hanno spinto la ricerca a focalizzarsi verso alternative che possano offrire una strategia di eradicazione con un basso impatto sia in termini di costo/terapia, sia di effetti collaterali.
L'efficacia nell'uso di probiotici per la prevenzione ed il trattamento di diversi disturbi gastrointestinali è riportata in molti studi e ciò conferma il potenziale effetto benefico non solo come coadiuvanti di terapie farmacologiche (**11-18**), ma anche come monoterapia.
I probiotici agiscono attraverso la modulazione della risposta immunitaria, il ripristino dell'integrità delle barriere, la modulazione della traslocazione di batteri e macromolecole. La riduzione della severità dell'infiammazione della mucosa gastrica (**19**) viene supportata dai probiotici attraverso la produzione di peptidi antimicrobici e di acidi grassi a catena corta che abbassano il pH locale creando un ambiente poco favorevole allo sviluppo di specie patogene.
I probiotici inoltre stimolano la produzione di mucina dall'epitelio che porta ad una riduzione della capacità di adesione dei patogeni. Questo approccio è stato applicato anche al trattamento dell'infezione da *H. pylori* (**20**). Attraverso la produzione di lattato (**21**) e batteriocine (**22**) (principalmente pro-

teine ad azione antibatterica codificate da geni localizzati su un plasmide), oltre che all'inibizione dell'ureasi stessa dell'*H. pylori* (**23**), si è visto che i probiotici esplicano un'azione favorevole, modulando l'infezione gastrica provocata dal batterio.
Vi è poi un crescente interesse verso i ceppi "inattivati", non vitali, che sembrano essere efficaci per ottenere una significativa risposta biologica indipendentemente dal loro effetto probiotico (**24**).
Precedenti articoli descrivono l'utilizzo di ceppi di *L. reuteri* in studi clinici per la riduzione dell'attività ureasica di *H. pylori* (**25**).
Si ipotizza che la risposta, e quindi la riduzione del carico di *H. pylori* nello stomaco, si esplichi attraverso un'interazione selettiva tra superfici batteriche: questo aspetto rappresenta un approccio innovativo per combattere la patogenicità di questo dannoso batterio.
Scopo della *rewiev* è riportare gli studi più recenti condotti su *Lactobacillus reuteri* DSMZ17648 tindalizzato nel supporto del trattamento dell'infezione da *H. pylori*.

Caratteristiche di *Lactobacillus reuteri* DSMZ17648 tindalizzato e *screening* di co-aggregazione

Il *Lactobacillus reuteri* è un batterio Gram-positivo appartenente al genere *Lactobacillus* che colonizza sia l'uomo che l'animale. Inizialmente isolato nel tratto gastro-intestinale e in campioni di materiale fecale e vaginale, è stata rilevata la sua presenza anche nel latte materno insieme ad altri batteri del genere *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.
Il ceppo di *L. reuteri*, isolato da fonte umana e specificatamente scelto per le proprietà di co-aggregazione specifica verso *Helicobacter pylori*, a seguito di analisi tassonomica è stato depositato presso il Leibnitz Institute con il codice DSMZ17648.
L. reuteri è presente nella lista positiva dell'EFSA ed ha ottenuto lo *status* QPS (presunzione qualificata di sicurezza).
L. reuteri DSMZ17648 tindalizzato (***Pylopass™****) viene prodotto attraverso un processo di fermentazione completamente *solvent free*, in condizioni strettamente controllate. Un volta valutata la capacità del ceppo di co-aggregare *Helicobacter pylori*, le cellule vengono prelevate dal terreno di coltura, lavate, sospese in una matrice ed atomizzate (*spray-dried*) (**26**).
Questo specifico ceppo è stato identificato tra oltre 8000 diversi ceppi di *Lactobacillus* ssp. *wild type*. Incrociando collezioni private (Culture Collection, Organobalance GmbH, Germania) con ceppi *food grade* ottenuti da diverse fonti (cibo, piante, vegetali e umane), solo 8 ceppi hanno mostrato co-aggregazione con *H. pylori* DSM21031, senza per altro mostrare auto-aggregazione. Di questi, il *L. fermentum* DSMZ17648 (ottenuto da fonte umana), classificato poi come *L. reuteri* attraverso sequenziamento del 16 S r-DNA (**27**) (100% identità CP000705, CP006603, 99% CP006011) è stato sottoposto ad approfondite analisi e verifiche.
L. reuteri DSMZ17648 tindalizzato si è dimostrato essere il ceppo con la più elevata specificità di legame con differenti ceppi e sierotipi di *H. pylori*, ma non con *Campylobacter jejuni* o altri batteri commensali orali e intestinali (test *in vitro* e *in vivo*).
La co-aggregazione specifica è stata valutata mescolando in rapporto 1:1 cellule di *L. reuteri* DSMZ17648, tindalizzato (in PBS) con cellule di *H. pylori* DSM21031 (in succo gastrico artificiale pH 4, 0,3% pepsina, 0,5% w/v sodio cloruro).
A seguito di mescolamento, si assiste ad un'immediata flocculazione: si possono osservare co-aggregati e tali strutture non risultano essere presenti nelle soluzioni dei ceppi singoli (***Figg.1,2***).

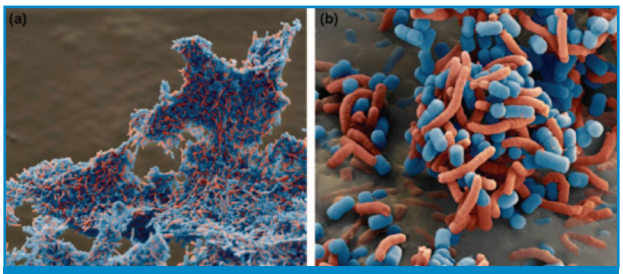


Figura 1 - Immagini al microscopio elettronico a scansione di co-aggregato *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato (blu)/*Helicobacter pylori* (rosso). (**A**) Ingrandimento 1x1800; (**B**) ingrandimento 1x11000

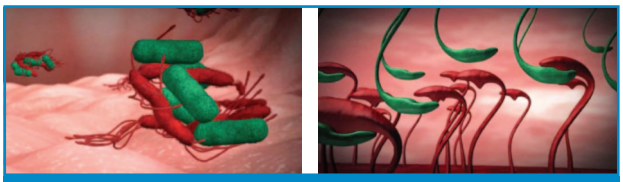


Figura 2 - Rappresentazione schematica del meccanismo di co-aggregazione specifica tra *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato(verde) ed *Helicobacter pylori* (rosso)

(*)Pylopass™, prodotto da Organobalance GmbH, è distribuito da Variati.

laura.caimi@variati.it, www.variati.it

A completamento dei test pre-studio, è stata valutata la capacità di co-aggregazione in presenza di zuccheri (saccarosio, lattosio, glucosio, maltosio, iso-maltosio, fruttosio, sorbitolo - sol. 25mM): alle condizioni di pH gastrico ed in presenza di zuccheri la coltura pura non ha mostrato auto-aggregazione, ma in rapporto 1:1 con *H. pylori* DSMZ12031 si sono formati aggregati (**28**).
Oltre all'azione diretta su *H. pylori*, attraverso gli studi è stata valutata se la tipologia di produzione (*spray-dried* e *freeze-dried*) potesse influire sulla capacità di co-aggregazione.
I risultati hanno dimostrato che sia il prodotto *spray-dried* che quello *freeze-dried* di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato esplicano la medesima capacità di aggregazione specifica verso i ceppi di *H. pylori*.
Considerando quindi l'aspetto legato alla praticità di produzione, la tecnologia *spray-dried* ha notevoli vantaggi rispetto ad un prodotto *freeze-dried* sia in termini di costi di produzione, sia di vantaggi di trasporto, stoccaggio e stabilità del prodotto stesso.

Studi pilota

Due studi pilota (**25,29**) condotti su 22 e 24 soggetti rispettivamente hanno valutato gli effetti della somministrazione di *L. reuteri* DSMZ17648 sull'eradicazione di *H.pylori*. I soggetti sono stati scelti mediante un test non invasivo, l'Urea Breath Test: questo test consiste in una raccolta di campioni di aria espirata, a seguito della somministrazione di una soluzione contenente urea marcata con un isotopo del carbonio (^{13}C UBT, ^{13}C urea breath test, Helicobacter Test INFAI® - INFAI GmbH, Köln, Germania). Il paziente ingerisce 75 mg di urea marcata con isotopo ^{13}C che in presenza di *H. pylori*, attraverso l'attività ureasica del batterio stesso, viene scissa in ammoniaca e anidride carbonica marcata appunto con isotopo ^{13}C.
Per valutare correttamente la presenza o meno di *H. pylori*, vengono raccolti campioni di aria espirata 30 minuti prima e 30 minuti dopo l'ingestione di urea marcata.
La presenza di *H. pylori* si valuta positivamente se la differenza di valore ^{13}C/^{12}C (δ) a 0 e 30 min. eccede una soglia stabilita (nel caso dello studio il valore è pari a 4‰).
Specificità (98,5%) e sensibilità (97,9%) del test INFAI® sono comparabili a test diagnostici tradizionali invasivi (endoscopia, biopsia).

Ai soggetti è stato somministrato *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato (4 capsule/giorno contenenti 5x10^9 cellule ciascuna) o placebo per 14 giorni, e quindi è stato ripetuto il test INFAI®.
I risultati del primo studio (***Fig. 3***) indicano che la presenza di *H. Pylori* è statisticamente diminuita rispetto al basale solo per i soggetti che hanno assunto *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato (-16%, p=0.011), mentre non differiva dal basale dopo assunzione di placebo (-3%, n.s.). Risultati simili si sono ottenuti nel secondo studio (***Fig. 4***): si è avuta una diminuzione della presenza di *H. Pylori* statisticamente significativa nel gruppo che ha ricevuto *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato (-4,9%, *p*=0,026), ma non nel gruppo che aveva assunto placebo (- 0,6%,n.s.).
I test di controllo sono stati prolungati a 6, 12 e 24 settimane dopo il termine del trattamento e i risultati hanno confermato il decremento rilevato al termine dei 14 giorni (*vs* baseline): la diminuzione (quantitativa) della presenza di *H. pilori* era pari a circa il

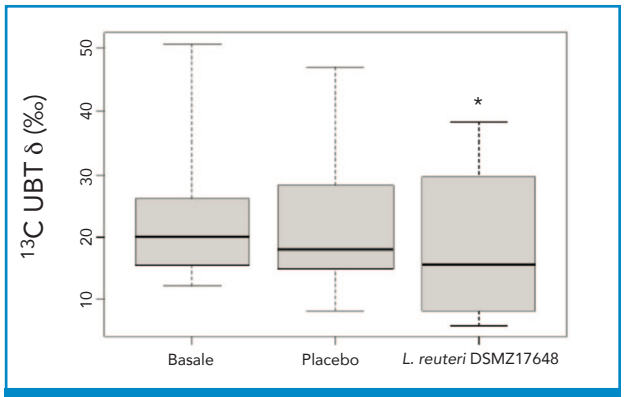


Figura 3 - Valori assoluti di ^{13}C UBT basali e dopo 14 giorni di trattamento con placebo o DSMZ17648 tindalizzato (25). *p=0.011 *vs* basale

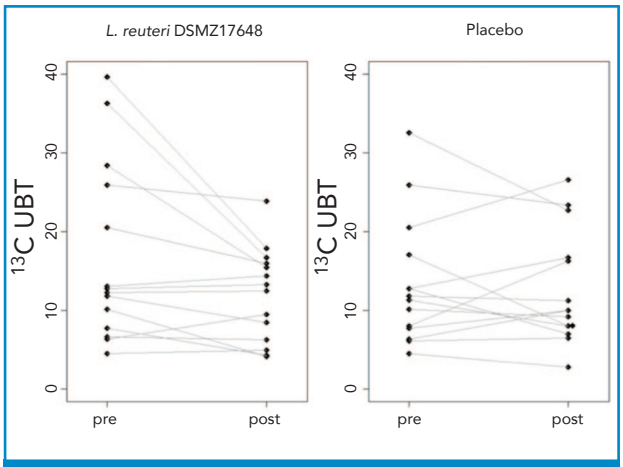
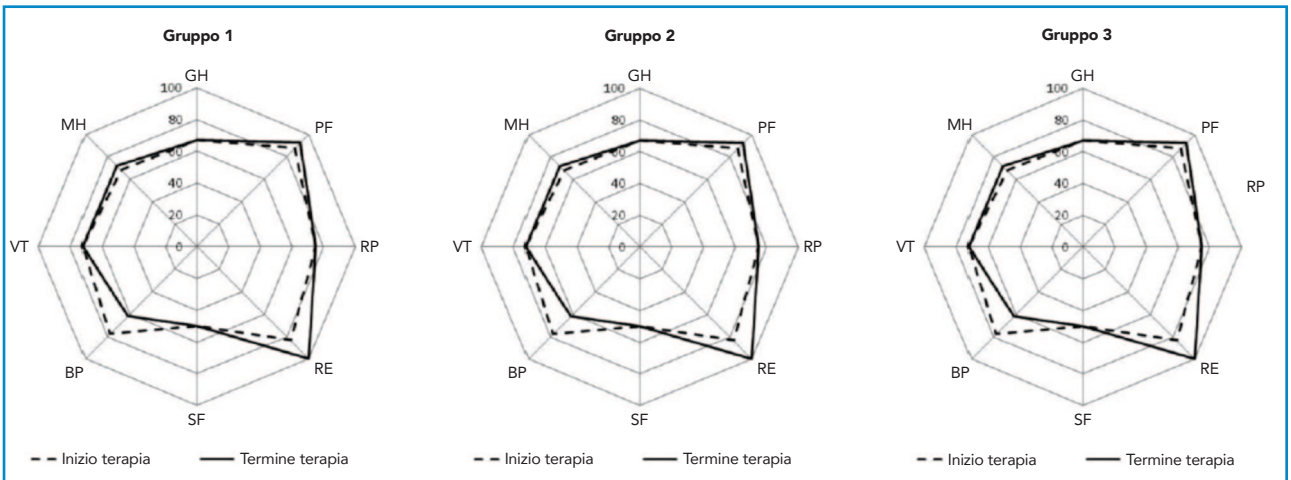


Figura 4 - Valori assoluti di ^{13}C UBT nei singoli soggetti rpima o 14 giorni dopo l'assunzione di placebo o DSMZ17648 tindalizzato (29)

16% nei soggetti trattati con *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato rispetto ad una diminuzione non significativa del 3% circa nei soggetti trattati con placebo.

Studi clinici

Un primo studio clinico è stato condotto su 49 bambini (20 femmine e 29 maschi) di età compresa tra 9 e 17 anni affetti da disturbi gastroduodenali collegati alla presenza di *H. pylori*; tutti i soggetti non avevano ricevuto preventivamente cure per l'eradicazione del batterio.
La diagnosi è stata fatta attraverso biopsie della membrana mucosa dell'antro gastrico, del corpo e del duodeno seguite da studi morfologici. I casi sono stati suddivisi in grado lieve, moderato e grave a seguito della valutazione dell'infiltrazione di neutrofili, atrofia delle ghiandole, e metaplasia intestinale. In aggiunta è stata quantificata la presenza di *H. pylori* nella mucosa, valutando la forma batterica (spirale, coccoidale) e la localizzazione preferenziale (fossette gastriche, superficie).
I soggetti sono stati suddivisi in 3 gruppi (17, 16 e 16 bambini rispettivamente) a seconda della storia clinica.
Il primo gruppo è stato trattato con monoterapia di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato, 1 capsula da 200mg al giorno per 4 settimane; il secondo gruppo ha assunto per 10 giorni il trattamento classico combinato di un inibitore della pompa protonica e due antibiotici (omeprazolo, amoxicillina, metronidazolo) unitamente a bismuto tripotassico dicitratobismutato (il dosaggio della terapia è stato calibrato all'età dei soggetti); il terzo gruppo è stato trattato con terapia standard per 10 giorni in combinazione con *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato (200mg/giorno) per 4 settimane, ovvero 18 giorni oltre il termine del trattamento con terapia standard.
Quest'ultimo gruppo includeva bambini con disturbi di grado severo, con una lunga storia di problemi gastroenterici che non avevano mai assunto alcun tipo di terapia.
Per meglio valutare le dinamiche dei sintomi, sono stati utilizzati dei questionari inerenti a: dolore addominale, bruciore di stomaco, nausea, vomito, movimenti intestinali, modifica del gusto, *rash* cutanei. L'intensità dei sintomi dei soggetti sono stati valutati e registrati per la durata del trattamento, dopo il completamento e nel periodo post-trattamento.
Sono state rilevate differenze statistiche significative nei tre gruppi: il trattamento con *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato si è rivelato essere ottimamente tollerato e non sono stati rilevati incremento di dolori addominali o modificazioni nel gusto rispetto a quanto accade nei soggetti del secondo gruppo dove la rilevanza dei disturbi infiammatori della mucosa gastrica è maggiore.
Per poter valutare e comparare adeguatamente i risultati ottenuti nei tre gruppi, a 6 settimane dal completamento della cura sono state eseguite un'endoscopia e una biopsia della membrana mucosa.
La presenza e quantificazione dell'*Helicobacter* è stata valutata attraverso ^{13}C UBT.
Nel gruppo trattato con terapia standard si è assistito ad una scomparsa di *H. pylori* nel 68,75% dei soggetti, mentre nell'ultimo a cui è stata somministrata la terapia standard in associazione con *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato l'eradicazione si è completata nel 60% dei casi. Nel gruppo trattato con monoterapia di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato nel 50% dei soggetti si è assistito ad eradicazione del batterio.
Un secondo studio di coorte randomizzato è stato condotto su 60 soggetti adulti, suddivisi in 3 gruppi da 20 soggetti ciascuno (età media: 36 anni): nel gruppo 1 i soggetti hanno ricevuto il trattamento standard per 10 giorni (quadruplice terapia: Omeprazolo 20mg, 2 volte/*die*; Claritromicina 500mg, 2 volte/*die*; Amoxicillina 1000mg 2 volte/*die*; Denol 240mg 2volte/*die* - sale doppio di ammonio e potassio del bismutato citrato idrossido complesso colloidale); il gruppo 2 ha ricevuto invece una triplice terapia standard (Omeprazolo 20mg, 2 volte/*die*; Claritromicina 500mg, 2 volte/*die*; Amoxicillina 1000mg 2 volte/*die*) per 10 giorni; infine i soggetti del terzo gruppo hanno ricevuto la triplice terapia standard affiancata da 1 capsula due volte al giorno contenente 200mg di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato, trattamento continuato per ulteriori 18 giorni oltre il termine del trattamento standard.
I parametri valutati sono stati: salute generale (GH), andamento fisico generale (PF), ruolo base fisico (RP), ruolo emozionale (RE), andamento sociale (SF), intensità dolore (BP), attività vitale (VT), salute mentale (MH) (***Fig.5***).
Al termine dei trattamenti, la presenza di *H. pylori* è stata valutata attraverso sezioni istologiche. Mentre nei gruppi 1 e 2 rispettivamente 6 e 3 soggetti mostrano positività alla presenza del batterio, solo 1 paziente del gruppo 3 è risultato ancora positivo all'*Helicobacter*.



I parametri valutati sono stati: salute generale (GH), andamento fisico generale (PF), ruolo base fisico (RP), ruolo emozionale (RE), andamento sociale (SF), intensità dolore (BP), attività vitale (VT), salute mentale (MH)

Figura 5 - Dinamica dei valori medi valutati nei soggetti

Anche i risultati di questo studio suggeriscono che includere la somministrazione di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato in affiancamento alle terapie standard per l'eradicazione dell'*H. pylori* possa apportare benefici in termini di tollerabilità.
I risultati ottenuti indicano che la combinazione di terapia standard con *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato possa avere un andamento nell'eradicazione sovrapponibile alla terapia standard con l'aggiunta di De-nol, offrendo però un buon profilo in termini di sicurezza e tollerabilità rispetto ai farmaci tradizionali.

Discussione e Conclusioni

L'immediata co-aggregazione dei due ceppi, *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato e *Helicobacter pylori* è il dato di maggior interesse degli studi *in vitro* presentati. La co-aggregazione è specifica e non si assiste ad auto-aggregazione di Pylopass, né di *Helicobacter pylori*.
Inoltre la co-aggregazione non viene influenzata dalla presenza di zuccheri e si manifesta in un ampio intervallo di pH (2 che simula lo stomaco vuoto ÷ 8 pH dello stomaco dopo un pasto).
Un'ipotesi per spiegare questo peculiare meccanismo d'azione è che *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato, interferisca con la mobilità dell'*H. pylori* e di conseguenza con la sua capacità di adesione alla parete gastrica. In questo modo *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato ingloba *H. pylori* nell'aggregato mascherandone i siti di adesione necessari per l'annidamento e il conseguente sviluppo della patogenicità sull'uomo.
Si ipotizza pertanto che la capacità di co-aggregare di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato sia dovuta a specifiche molecole presenti sulla sua superficie cellulare che legano strutture presenti sulla superficie cellulare del batterio patogeno.
Inoltre *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato non mostra interferenze con la flora batterica "buona". Una volta creati, gli aggregati vengono poi eliminati dallo stomaco ed espulsi attraverso i normali flussi intestinali.
Il dato estremamente positivo è stato la totale mancanza di effetti collaterali sia a livello ematico che di *marker* enzimatici di funzionamento di fegato e reni (valutati prima e dopo il trattamento attraverso esami specifici).
L'utilizzo di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato ha molteplici potenziali campi di applicazione, ma gli studi evidenziano il possibile utilizzo di questo ceppo tindalizzato in monoterapia (**29,30**) in popolazioni che necessitano di una profilassi (positività all'*Helicobacter*, ma assenza o bassa/media presenza di sintomatologia) o durante periodi prolungati di cura per l'infezione da *Helicobacter pylori*.
Inoltre, il trattamento di tindalizzazione del ceppo rende il suo utilizzo idoneo allo sviluppo di integratori alimentari e/o dispositivi medici di facile utilizzo anche in zone climatiche che altrimenti potrebbero restare escluse a causa della difficoltà di conservazione di prodotti contenenti ceppi vivi.
L. reuteri DSMZ17648 tindalizzato può essere utilizzato in aree geografiche dove la prevalenza dell'in-

fezione è molto elevata a causa delle scarse condizioni igienico-sanitarie, aree nelle quali la terapia antibiotica ha scarsa diffusione.
Si può ritenere quindi che l'utilizzo di *L. reuteri* DSMZ17648 tindalizzato possa essere considerato realisticamente un innovativo approccio per controllare l'infezione da *Helicobacter pylori* proponendosi in affiancamento al protocollo terapeutico tradizionale, durante periodi di mantenimento o in soggetti che mostrino sintomi allo stadio iniziale o di lieve compromissione della mucosa gastrica.

Bibliografia

1. Blaser M J (2005) An Endangered Species in the Stomach.
   Sci Am 292(2):38-45
2. Giulio Bizzozero G (1893) Ueber die schlauchformigen drusen des magendarmkanals und die bezienhungen ihres epithels zu dem oberflachenepithel der schleimhaut.
   Arch Mikr Anat:42:82
3. Storia di *H. pylori*, http://helico.com.
4. Hocker M, Hohenberger P (2003) *Helicobacter pylori* virulence factors – one part of a big picture.
   Lancet 362:(9391)1231-1233
5. *H. pylori* su Epicentro, epicentro.iss.it.
6. Premio Nobel per la Psicologia e per la Medicina, nobelprize.org.
7. Fiocca R, Luinetti R, Villani L *et al* (1993) High incidence of *Helicobacter pylori* colonization in early gastric cancer and the possible relationship to carcinogenesis.
   Eur J Gastroenterol Hepatol 5(Suppl. 2):S2-S8
8. Wotherspoon AC, Doglioni C, Diss TC *et al* (1993) Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue after eradication of *Helicobacter pylori*.
   Lancet 342(8871):575-577
9. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA *et al* (2012) Management of *Helicobacter pylori* infection.
   The Maastricht IV/Florence Consensus Report Gut 61:646-664
10. O'Connor A, Gisbert JP, McNamara D, O'Morain C (2010) Treatment of *Helicobacter pylori* infection 2010.
    Helicobacter 15:46-52
11. Ritchie ML, Romanuk TN (2012) A meta-analysis of probiotic efficacy for gastrointestinal diseases.
    PLoS One 7, e34938
12. Dajani AI, Adnan M Abu Hammour, Yang D H *et al* (2013) Do Probiotics Improve Eradication Response to *Helicobacter Pylori* on Standard Triple or Sequential Therapy?
    Saudi J Gastroenterol 19(3):113-120
13. Emara M, Hesham S, Abdel-Aziz R (2014) *Lactobacillus reuteri* in management of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients: a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial.
    Therap Adv Gastroenterol7(1):4
14. Patel A, Shah N, Prajapati J B (2014) Clinical application of probiotics in the treatment of *Helicobacter pylori* infection - a brief review.
    J Microbiol Immunol Infect 47:429-443
15. Lionetti E, Indrio F, Pavone L, Borrelli G, Cavallo L, Francavilla R (2010) Role of Probiotics in Pediatric Patients with *Helicobacter pylori* Infection: A Comprehensive Review of the Literature.
    Helicobacter 15(2):79-87
16. Tong JL, Ran ZH, Shen J, Zhang CX, Xiao SD (2007) Meta-analysis: The effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy.
    Aliment Pharmacol Ther 25:155-168
17. Wilhelm SM, Johnson JL, Kale-Pradhan PB (2011) Treating bugs with bugs: the role of probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori*.
    Ann Pharmacother 45:960-966
18. Zou J, Dong J, Yu X (2009) Meta-analysis: *Lactobacillus* containing quadruple therapy versus standard triple first-line therapy for *Helicobacter pylori* eradication.
    Helicobacter 14(5):97-107
19. Lesbros-Pantoflickova D, Corthesy-Theulaz I, Blum AL (2007) *Helicobacter pylori* and probiotics.
    J Nutr 137:812-818
20. Francavilla R, Lionetti E, Castellaneta SP, Magistà AM, Maurogiovanni G *et al* (2008) Inhibition of *Helicobacter pylori* infection in humans by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 and effect on eradication therapy: A pilot study.
    Helicobacter 13:127-134
21. Chen X, Liu XM, Tian F, Zhang Q, Zhang HP *et al* (2012) Antagonistic activities of *lactobacilli* against *Helicobacter pylori* growth and infection in human gastric epithelial cells.
    J Food Sci 77:M9-14
22. Drozdov SN, Kornienko EA, Silver NB (2005) Probiotics as a way to improve the effectiveness of *Helicobacter pylori* eradication in children.
    Ros honey Journal T.XIII No 3 S:168-170
23. Goel A, Aggarwal R (2013) Probiotics as adjunctive therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection (Protocols) // Cochrane Database of Systematic Reviews Issue 10. 9 p
24. Adams CA (2010) The probiotic paradox: Live and dead cells are biological response modifiers.
    Nutr Res Rev 23:37-46
25. Mehling H, Busjahn A (2013) Non-Viable *Lactobacillus reuteri* DSMZ 17648 (Pylopass™) as a New Approach to *Helicobacter pylori* Control in Humans - Nutrients 5:3062-3073
26. Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA *et al* (2008) Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacteria 16 S rRNA genes.
    Appl Envirion Microbiol 74:2461-2470
27. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK (1998) Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract.
    J Appl Microbiol 84:759-768
28. Desmond C, Stanton C, Fitzgerald GF, Collins K, Ross RP (2001) Environmental adaptation of probiotic *lactobacilli* towards improvement of performance during spray drying.
    Int Dairy J 11:801-808
29. Holz C, Busjahn A, Mehling H, Arya S, Boettner M *et al* (2014) Significant Reduction in *Helicobacter pylori* Load in Humans with Non-viable *Lactobacillus reuteri* DSMZ17648: A Pilot Study.
    Probiotics & Antimicro Prot 14(1):110-120
30. Lionetti E, Miniello VL, Castellaneta SP, Magista AM, de Canio A *et al* (2006) *Lactobacillus reuteri* therapy to reduce sideeffects during anti-*Helicobacter pylori* treatment in children: a randomized placebo controlled trial.
    Aliment Pharmacol Ther 24:1461-1468